



Hållbarhet hos kemiska metaboliter i hundurin

Stability of chemical metabolites in canine urine

Petra Andersson

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2021



Hållbarhet hos kemiska metaboliter i hundurin

Stability of chemical metabolites in canine urine

Petra Andersson

Handledare: Inger Lilliehöök, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Bitr. handledare: Anna Selin, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Examinator: Anna Svensson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp
Nivå och fördjupning: A2E
Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod: EX0869
Program/utbildning: Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2021

Nyckelord: hund, urin, kemiska metaboliter, hållbarhet, förvaring

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

☒ JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

☐ NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

Urinprover kan behöva skickas till externa laboratorium för analys. Om ämnet, som ska analyseras, inte är stabilt under transport kan förseningar leda till felaktiga eller missvisande resultat. Av den orsaken är det viktigt att undersöka vilka förändringar som sker i urinprover under olika temperaturförhållanden vid olika tidpunkter. Det finns få tidigare studier inom hållbarhet hos kemiska metaboliter i urin och de gäller oftast urin från människor. Syftet med den här studien var att undersöka hållbarheten hos tio kemiska metaboliter i hundurin vid förvaring i rumstemperatur (~20–24 °C), kyl (4 °C) och frys (-20 °C) över tid. I studien ingick 12 urinprover, varav nio stycken kom från friska hundar och analyserades avseende kreatinin, cystatin C, urea, glukos, protein, elektrolyter (natrium, kalium, klorid), kalcium och fosfat. Proverna förvarades i rumstemperatur och 4 °C som sedan analyserades dag 1, 2, 3, 4 och 7. Prover som förvarades i -20 °C analyserades efter 7 dagar och efter 33–49 dagar. Resultaten presenterades som förändring i procent över tid, om förändringen var inom ± 10 % bedömdes variabeln godtagbart stabil för kliniska prover. Sex variabler (U-kreatinin, U-urea, U-natrium, U-kalium, U-klorid, U-fosfat) uppvisade god hållbarhet vid samtliga undersökta temperaturer och analystillfällen. U-kalcium var stabilt i fyra dagar vid förvaring i rumstemperatur eller 4 °C, men sjönk vid förvaring i frys. U-glukos förändrades mindre än ± 10 % under de första fyra dagarna om provet förvaras i 4 °C eller under hela studietiden i -20 °C, men hade sämre hållbarhet i rumstemperatur. U-protein och U-cystatin C, som ofta hade låg koncentration, hade sämre och mer varierande hållbarhet. Sju av de tio utvärderade urinvariablerna var godtagbart stabila vid förvaring i rumstemperatur i minst fyra dagar, vilket innebär att de vanligtvis klarar transport till laboratorium.

Nyckelord: hund, urin, kemiska metaboliter, hållbarhet, förvaring

Abstract

Urine samples from dogs occasionally need to be transported to external laboratories for analysis. If the substance is unstable, transport delays may cause incorrect analysis results. Consequently, it is necessary to evaluate what changes occur in urine samples at different storage conditions. The few previous studies made on the effects of storage on chemical metabolites in urine, focused primarily on human urine samples. The aim of this study was to evaluate the stability of ten chemical metabolites in dog urine during storage at room temperature (~20–24 °C), fridge (4 °C) and frozen (-20 °C). The study included 12 urine samples, whereof nine came from healthy dogs, and analyzed for creatinine, cystatin C, urea, glucose, protein, electrolytes (sodium, potassium, chloride), calcium and phosphate. The samples were stored at room temperature and 4 °C for up to 7 days. Samples stored in -20 °C were analyzed after 7 days and after 33-49 days. The results were presented in percentage change over time, if the change was within $\pm 10\%$, the variable was considered stable. Six of the variables (U-creatinine, U-urea, U-sodium, U-potassium, U-chloride, U-phosphate) showed good stability at all examined temperatures at day 7. U-calcium was stable for four days when stored at room temperature or 4 °C, but decreased when stored frozen. U-glucose changed less than $\pm 10\%$ during the first four days when stored at 4 °C or during the entire study period at -20 °C, but was less stable at room temperature. U-protein and U-cystatin C, which often had low concentrations, had more variability and were less stable. Seven of the ten evaluated urine variables had acceptable stability when stored at room temperature for at least four days, which means that they can be transported to the laboratory without the analysis results being affected.

Key words: dog, urine, chemical metabolites, stability, storage

Innehållsförteckning

Inledning	9
Litteraturöversikt.....	10
Urinprover i diagnostiken; rutinprover, fraktionerad utsöndring och biologisk variation ...	10
Kemiska metaboliter i urin	11
Kreatinin i urin	11
Urea i urin	12
Protein i urin	12
Cystatin C i urin	13
Glukos i urin	13
Elektrolyter i urin	14
Kalcium och fosfat i urin	15
Hållbarhet	15
Material och metod.....	19
Studiedesign	19
Prover	19
Analysmetoder	21
Statistik.....	21
Resultat	22
Diskussion	27
Referenser.....	32
Tack	36
Populärvetenskaplig sammanfattning	37
Bilaga 1	39

Inledning

Urin innehåller stora mängder information om vad som sker i kroppen (Dalanghe & Speeckaert 2016). En fullständig urinanalys anses av många veterinärmedicinska specialister vara det viktigaste diagnostiska testet (Piech & Wycislo 2019). Förutom att kunna upptäcka sjukdomar i njurar och urinvägar, så som bakteriell cystit, renal proteinuri och övergångscellskarcinom, kan en urinanalys även diagnostisera andra sjukdomar. Endokrina sjukdomar, som till exempel diabetes mellitus och andra systemiska störningar som intravaskulär hemolys, kan ofta diagnostiseras via urinbedömning (Piech & Wycislo 2019). Urinanalyser har förbättrats avsevärt på grund av den senaste tidens tekniska framsteg, vilket lett till högre och striktare preanalytiska krav (Dalanghe & Speeckaert 2016). Varierande uppsamlingsmetoder och olämplig transporter av prover kan orsaka viktiga preanalytiska fel (Dalanghe & Speeckaert 2016). Tiden mellan provtagning och genomförande av analys är avgörande för pålitligheten av resultaten (Dolscheid-Pommerich *et al.* 2016). Förändringar i koncentration av urinkomponenter kan förekomma, vilket gör resultaten svårtolkade (Dolscheid-Pommerich *et al.* 2016). Standardiserat utförande för uppsamling, transport, provberedning och analys av urin bör vara grunden för en effektiv diagnostisk strategi vid urinanalyser (Dalanghe & Speeckaert 2016).

Det finns tidigare publicerade studier avseende hållbarhet hos urinprotein/kreatinin-kvot (UPC) i hundurin. Eftersom urinprover avsedda för analys av UPC vanligtvis levereras till externa laboratorier från privata veterinärkliniker, utgör stabilitet av UPC vid olika förvaringsförhållanden över tid en potentiellt preanalytisk riskfaktor (Rossi *et al.* 2012). Det finns även hållbarhetsstudier avseende cystatin C i hundurin (Monti *et al.* 2012), humanurin (Herget-Rosenthal *et al.* 2004; Ji *et al.* 2018; Suárez-Fernández *et al.* 2019) och urin från råttor (Lee *et al.* 2014). Däremot finns ganska få studier gällande hållbarhet hos andra kemiska variabler i urin och de som finns gäller oftast urin från människor (Worth *et al.* 1980; Remer *et al.* 2014; Herrington *et al.* 2016).

Urinprover kan behöva skickas till externa laboratorium, exempelvis via post. Syftet med denna studie var att undersöka hållbarheten hos kemiska metaboliter i hundurin vid förvaring i rumstemperatur (~20–24 °C), 4 °C och -20 °C över tid. Förhoppningen är att resultaten i studien kan leda till en större förståelse för hur urinprover ska hanteras och skickas i klinisk verksamhet. I denna studie undersöktes hållbarheten hos 10 stycken kemiska variabler i hundurin. Följande metaboliter undersöktes: kreatinin, cystatin C, urea, glukos, protein, natrium (Na), kalium (K), klorid (Cl), kalcium (Ca) och fosfat (P).

Litteraturöversikt

Urinprover i diagnostiken; rutinprover, fraktionerad utsöndring och biologisk variation

En komplett urinalys innehåller bedömning av färg och klarhet, mätning av specifik vikt (USG), kemisk analys och mikroskopisk bedömning av sediment (Piech & Wycislo 2019). Det är viktigt att komma ihåg att testerna ska tolkas tillsammans och inte var för sig, för en så korrekt analys som möjligt. Kemiska analyser av urin utförs vanligtvis semikvantitativt med urinstickor. Dessa stickor kan tolkas manuellt eller avläses med automatiserade metoder. I allmänhet är urinstickor pålitliga för mätning av pH, glukos, ketoner, bilirubin, blod och protein i hundurin. De anses vara opålitliga för mätning av USG, leukocyter, nitrit och urobilinogen i hundurin (Piech & Wycislo 2019). Specifik vikt kan mätas med refraktometer, som bryter ljuset brytningsindex när det färdas från luft till en vätska innehållande partiklar, vilka ändrar ljusets riktning varpå ljuset bryts (Osborne & Stevens 1999). Specifik vikt är ett mått på förhållandet mellan vikten av en volym vätska och vikten av samma volym destillerat vatten vid en specifik temperatur (Nelson & Couto 2014).

Det finns stora skillnader i urinens sammansättning, både mellan individer och hos en och samma individ (Waldrop 2008). Dessa skillnader i urinen hos friska individer gör det svårt att definiera en normal urinkomposition (Waldrop 2008). Diet, vätskeintag, hormoner och njurens tröskelvärde för reabsorption för en enskild substans påverkar mängden vatten och substanser som utsöndras via njuren, vilket leder till att mängden utsöndrat vatten och substanser varierar (Sjaastad *et al.* 2010). Fraktionerad utsöndring (FE) av elektrolyter är procentandelen av ett ämne filtrerat av njuren som hamnar i urinen (Pressler 2013). FE kan användas för att utvärdera funktionen i njurtubuli och kan till exempel beräknas genom utsöndring av en elektrolyt i förhållande till elektrolytens serumkoncentration med korrigering för filtreringshastighetsbaserad utsöndring av kreatinin (Pressler 2013). Även om urinsamling under en 24 timmars period är mest exakt för att bestämma FE, ger engångsprovtagning av samtidig uppsamlad urin och plasma klinisk rimlig uppskattning av total daglig utsöndring, trots viss variation. Många faktorer påverkar FE och det finns få studier som undersökt referensintervall för hundar och katter. Det finns en generell regel att som säger att FE av natrium normalt ska vara låg (<1%), medan FE av kalium ska vara högt (upp till 25 %) (Pressler 2013). Ett examensarbete inom veterinärprogrammet 2020 (Damm 2020) tog fram riktvärden för FE för de kemiska variablerna som även undersöks i denna studie. Även tidigare har referensintervall för FE av elektrolyter undersökts (Laroute *et al.* 2005; Bennett

et al. 2006). Genom att mäta fraktionerad utsöndring och inte den absoluta koncentrationen av ett ämne i urinen undviks problemet med att den varierande koncentrationen i urin påverkar provsvaren (Brown *et al.* 2015).

Biologiska variabler har alla en inneboende variation och är inte konstanta (Fraser 2004). Biologisk variation kan delas in i tre steg, vilka utgörs av analytisk variation, variation inom individen samt variation mellan individer (Ricós *et al.* 2004). Biologisk variation delas upp i intra- och interindividuella variabler. Intraindividuell variation är skillnader hos samma individ mellan olika tillfällen som kan påverka koncentrationen av olika variabler i blod och urin. Intraindividuell variation påverkas av ålder, kön, vikt eller diet. Biologisk variation hos samma individ mellan olika tillfällen gör att en individ kan ha värden inom referensintervallet, trots att det skett en signifikant förändring av variabeln hos individen. Interindividuella skillnader är en variation mellan individer (Ricós *et al.* 2004). Utöver biologiska skillnader finns också en analytisk variation (Fraser 2004).

Kemiska metaboliter i urin

Kreatinin i urin

Kreatinin är en analyt som produceras vid nedbrytning av kreatin och kreatinfosfat som framför allt finns i skelettmuskulatur (Braun & Lefebvre 2008). Vid muskelaktivitet frigörs kreatin och en del omvandlas till kreatinin. Kreatinin elimineras från kroppen i urinen via njurarna, där det filtreras fritt i glomeruli och reabsorberas inte i tubuli. Mängden kreatinin i serum påverkas av individens muskelmängd men visar liten eller ingen respons på dietära förändringar eller katabola processer (till exempel feber, toxinemi, infektioner eller vissa läkemedel) (Braun & Lefebvre 2008). Kreatininkoncentrationen i plasma är relativt konstant och har ansetts vara en bra markör för GFR (glomerular filtration rate) och utvärdering av njurfunktion (Watson *et al.* 2002).

Det finns två orsaker till att en tillförlitlig mätning av kreatinin i urin är viktigt (Spierto *et al.* 1997). Den första är att avvikande kreatinin-nivåer i urin kan bero på diverse abnormaliteter, exempelvis en akut infektion, inflammation eller njurskada. Den andra orsaken är att kreatinin i förhållande till några andra substanser (exempelvis protein och elektrolyter) har en relativ konstant utsöndringsgrad över dygnet. De andra substanserna (exempelvis protein och elektrolyter) uttrycks vanligtvis inte i koncentration, eftersom koncentrationen varierar över dygnet på grund av varierande utflödes hastighet. Kreatinin, som har en relativt konstant utsöndringsgrad över dygnet, kan användas för att kompensera för den variabilitet som ses hos andra substanser. Nivåerna av de nämnda substanserna uttrycks då i

förhållande till koncentrationen av kreatinin i samma urinprov (Spierto *et al.* 1997). Exempel på när kreatinin-kvoter kan användas, är i förhållande till urin-protein (UPC) och urin-albumin, samt vid fraktionerad utsöndring av elektrolyter.

Urea i urin

Urea är en liten vattenlöslig molekyl som bildas vid nedbrytning av proteiner som finns i föda och i vävnad (Braun och Lefebvre 2008). Urea filtreras fritt i glomeruli samt både reabsorberas och utsöndras i tubuli. Den passiva absorptionen i tubuli ökar när urinflödet i tubuli reduceras, vilket kan leda till ökad halt av urea i blodet hos uttorkade individer eller individer med blödning. Ökad urea i blodet kan även bero på minskad GFR i njuren, urinstopp eller stort intag av protein via föda. Minskad urea i blodet ses vid överhydrerade patienter, lågt intag av proteiner samt minskad produktion vid grav leverinsufficiens. Det är framför allt i form av urea som kväve elimineras från kroppen hos däggdjur (Braun och Lefebvre 2008).

I dagsläget är det framför allt urea i serum som används i klinisk verksamhet. Det finns dock pågående forskning kring hur urin-urea (U-urea) har potential att användas. Hos människor finns studier utförda på hur fraktionerad utsöndring av natrium (FE Na) och urea (FE Urea) i urin kan användas för att kunna skilja mellan funktionell AKI (acute kidney injury) (orsakad av för dålig genomblödning till njurarna) och strukturell AKI (direkt skada på glomeruli eller nefron) (Vanmassenhove *et al.* 2013). Resultaten visade att en kombination av hög FE Na och låg FE Urea är associerad med strukturell AKI, medan en kombinerad hög FE Na och hög FE Urea är en indikation på funktionell AKI (Vanmassenhove *et al.* 2013). I en studie (Troía *et al.* 2018) utförd på hundar har det inte bevisats att FE Urea har ett bra diagnostiskt värde för att skilja hundar med funktionell AKI och strukturell AKI. Studien visade ingen signifikant skillnad i FE Urea hos hundar med funktionell AKI eller strukturell AKI, vilket tros bero på individuella skillnader i ureametabolism, renal hantering och dietära skillnader (Troía *et al.* 2018).

Protein i urin

Glomeruli är en effektiv barriär för proteiner, dock filtreras små plasmaproteiner som till exempel peptider och små mängder albumin genom glomeruli (Sjaastad *et al.* 2010). De filtrerade proteinmolekylerna reabsorberas i proximala tubuli och en liten mängd proteiner kan detekteras i urinen hos många däggdjur, bland annat hos hund (Sjaastad *et al.* 2010). Protein i urinen anses vara en nyckelfaktor som påverkas av progressiva njursjukdomar och är en av de första abnormaliteter som hittas hos vissa familjära progressiva glomerulära sjukdomar hos hund (Théron *et al.* 2017). Att tidigt upptäcka persisterande renal proteinuri är viktigt för att kunna ge lämplig behandling (Théron *et al.* 2017). Flera studier på människa och djur tyder på att det finns en korrelation mellan graden av proteinuri och utvecklings-

hastigheten av njursvikt, vilket lett till hypotesen att proteinuri kan vara en mediator för progression av njursvikt snarare än att bara vara en markör för glomerulär dysfunktion (Burton & Harris 1996).

Cystatin C i urin

Cystatin C är en inhibitor av endogena extracellulära proteinaser som produceras av alla kärnförande celler (Nelson & Couto 2014). Cystatin C filtreras fritt i glomeruli och reabsorberas i proximala tubuli. Produktionen sker i konstant hastighet i alla vävnader och dess exkretion är inte beroende av ålder, kön eller diet. Det resulterar i att cystatin C i serum och i urin kan användas som en markör för GFR (Nelson & Couto 2014). Eftersom nästan all cystatin C reabsorberas i tubuli är nivåerna i urinen låg hos friska hundar, medan nivåerna är högre i urin hos individer med tubulär skada (Conti *et al.* 2006). En studie av Monti *et al.* (2012) indikerar på att urin-cystatinC/kreatininkvot i framtiden kan komma att användas för att skilja friska hundar från hundar med njursjukdom.

Glukos i urin

Glukosuri uppkommer om blod-glukoskoncentrationen överstiger njurtröskelvärdet (ca 180 mg/dL hos hund) (Nelson & Couto 2014). Det finns flera sjukdomstillstånd som kan orsaka glukosuri, exempelvis diabetes mellitus och renala tubulära sjukdomar. Glukosuri kan även orsakas av stress eller vid administration av glukos-innehållande vätskor (Nelson & Couto 2014).

Ett vanligt sätt att undersöka om glukos finns i urinen är att använda urinstickor (Zeugswetter och Schwendenwein 2020). Den lägsta urin-glukoskoncentrationen som urinstickor registrerar är 50 mg/dL eller 100 mg/dL beroende på tillverkare. Positiva resultat anses vara patologiskt. Nya känsligare testremsor som ger positiva resultat vid 20 mg/dL har introducerats på marknaden, där råder dock osäkerhet kring tolkning av resultaten. Tillverkaren menar att lindriga positiva reaktioner är möjliga hos friska hundar och kan tolkas som att glukosuri inte föreligger. För att undersöka om basal glukosutsöndring kan detekteras i urinen hos icke-diabetiska hundar vid analys med en känslig kemimetod utförde Zeugswetter och Schwendenwein (2020) en studie, där det ingick 560 hundar. I studien upptäcktes att små mängder glukos är ständigt närvarande i hundurin och att glukosutsöndringen inte påverkas av utfodring, fetma, ålder eller kön. Glukoskoncentrationen var över 20 mg/dL hos 7,1 % av urinproverna från icke-diabetiska hundar som undersöktes i studien. Författarna menar dock att det krävs fler studier för att definiera gränsvärden mellan fysiologisk och patologisk glukosuri (Zeugswetter och Schwendenwein 2020).

Elektrolyter i urin

I vilken utsträckning elektrolyter uppträder i urinen beror på njurens filtration av blod, samtidig reabsorption samt utsöndring av elektrolyter och vatten i njurtubuli (Waldrop 2008; Nelson & Couto 2014). Utsöndringen av elektrolyter beror på flera olika faktorer, bland annat dietära koncentrationer, njurfunktion, flera olika hormoner, hastigheten av filtration i glomeruli och hydreringsgrad samt intra-vaskulär blodvolym (Pressler 2013).

Den cirkulerande volymen vätska i kroppen regleras genom utsöndring och reabsorption av natrium och vatten via njuren (Waldrop 2008). Volymändringar registreras av receptorer i kärl och förändringen leder till sekretion av flera hormoner som påverkar natrium-reabsorption och natrium-sekretion i njuren. Klorid förflyttas vanligtvis med natrium när natrium-sekretion eller natrium-reabsorption sker, och vatten följer sekundärt (Waldrop 2008). Njurarna är det viktigaste organet när det gäller reglering av natriumkoncentration i kroppen (Sjaastad *et al.* 2010). Förutom avgörande inverkan på natrium-homeostas, är njurens hantering av natrium också viktig av andra orsaker. Reabsorption av natrium skapar en drivande kraft för reabsorption av substanser som till exempel glukos, aminosyror, joner och vatten. Natrium är även kopplad till sekretion av kalium och vätejoner (H^+). Aldosteron är den viktigaste faktorn i reglering av natrium- och kaliumsekretion via urinen. En ökad koncentration av aldosteron i plasma ökar reabsorptionen av natrium och sekretionen av kalium (Sjaastad *et al.* 2010).

Klorid är den vanligaste förekommande anjonen i den extracellulära vätskan (Braun & Lefebvre 2008). Ändring i kloridkoncentration i plasma och eliminationen av klorid via njuren sker vanligtvis samtidigt som natrium, bortsett från när det förekommer syra-basrubbnings. Vid metabolisk acidosis, utsöndras bikarbonatjoner via njuren i utbyte mot klorid via Na-beroende Cl/HCO_3 -kanaler, varpå elimination av klorid via urinen ökar (Braun & Lefebvre 2008).

Analys och utvärdering av natrium och klorid i urin kan vara användbar för differentiering av hypovolemi och njurtubuli-dysfunktion hos patienter med azotemi (Waldrop 2008). Hos djur med prerenal azotemi eller hypovolemi bör reabsorption av natrium ske och FE av natrium vara lågt (Nelson & Couto 2014; Waldrop 2008). Vid primär azotemi orsakad av tubulär dysfunktion är FE av natrium och klorid i urin högre än normalt. Högt urin-natrium (U-natrium) kan även ses vid andra tillstånd än vid akut tubulär dysfunktion, till exempel vid postrenal azotemi, hypotyroidism och hypoadrenokorticism (Waldrop 2008; Nelson & Couto 2014). Lennon *et al.* (2008) har rapporterat resultat som tyder på att U-natrium kan användas för att utesluta hypoadrenokorticism hos hundar med hyponatremi. Hundar med hypoadrenokorticism har högre U-natrium än hundar med hypo-

natremi orsakad av icke-adrenal sjukdom. Falskt högt U-natrium kan orsakas av en defekt i natrium-reabsorptionen trots att hypovolemi föreligger. Falskt lågt U-natrium kan i sin tur orsakas av diabetes insipidus på grund av att urinen blir utspädd. Det gör att U-natrium bör tolkas med försiktighet (Waldrop 2008).

Kalium reabsorberas i proximala tubuli, Henles slynga, distala tubuli och medullära samlingsrören. Utsöndringen sker i distala tubuli och i kortikala samlingsrören, framför allt när hyperkalemi förekommer (Braun & Lefebvre 2008). Hos hundar med akut njursjukdom i tidigt skede har det setts en ökning av FE av kalium (Brown *et al.* 2015). Dock minskar FE av kalium redan efter dag ett. I studien kunde det inte ses någon skillnad i FE av kalium mellan hundar som överlevde akut njursjukdom och hundar som inte överlevde (Brown *et al.* 2015).

Kalcium och fosfat i urin

Kalcium har flera viktiga roller i kroppen, bland annat för mineralisering av skelett, blodkoagulation, neuromuskulär transmission och för att upprätthålla normal tonus i skelett- och hjärtmuskulatur (Sava *et al.* 2005). Ungefär 50 % av kalcium i plasma är bundet till proteiner och bara den andel kalcium som inte är bundet till proteiner filtreras genom glomeruli (Sjaastad *et al.* 2010). Kalcium reabsorberas framför allt i proximala tubuli och i Henles slynga (Braun & Lefebvre 2008). Parathyroidea-hormon (PTH) stimulerar reabsorptionen och reducerar förlusten av kalcium via urinen. Vanligtvis är det endast 1–2 % av det kalcium som filtreras genom glomeruli som utsöndras via urinen (Sjaastad *et al.* 2010).

Fosfat reabsorberas i proximala tubuli genom samtransport med natrium, som inhiberas av PTH, vilket leder till ökad utsöndring av fosfor (Braun & Lefebvre 2008). Vissa peptider kan också minska tubulär fosfat-reabsorption utan någon förändring av glukos- och aminosyra-reabsorption, vilket leder till ökad utsöndring av fosfat via njuren (Braun & Lefebvre 2008). Vid kronisk njursjukdom leder förlusten av njurvävnad till en minskning i GFR, vilket ger fosfatretention som gör att urinutsöndringen av fosfor minskar (Martorelli, *et al.* 2017). Fosfatretention och ytterligare hyperfosfatemi är associerad med utveckling av renal hyperparatyroidism och sjukdomsprogression. Därför är övervakning av fraktionell utsöndring av fosfor en viktig del i den terapeutiska strategin för att undvika progression av kronisk njursjukdom (Martorelli, *et al.* 2017).

Hållbarhet

Tidigare publicerade studier har undersökt hållbarhet hos U-kreatinin, UPC, U-glukos, U-cystatin C och elektrolyter i urin. En studie utförd på människor rapporterade att kreatininkoncentrationen i urin var stabil vid förvaring i rums-temperatur

respektive 4 °C upp till 28 dagar (Spierto *et al.* 1997). Kreatinin tycks dock vara stabilt vid längre förvaring i lägre temperatur. I -70 °C har det inte upptäckts någon signifikant förändring av kreatinin i urin vid förvaring upp till 900 dagar (Parekh *et al.* 2007).

Rossi *et al.* (2012) undersökte hur flera preanalytiska faktorer påverkade urinprotein/kreatininkvot (UPC) i urin från hundar. I studien förändrades UPC signifikant efter 12 timmar i rumstemperatur, vilket framför allt berodde på att U-proteinkoncentrationen förändrades. U-kreatininkoncentrationen förändrades inte signifikant vid förvaring i rumstemperatur upp till 72 timmar. Under studien observerades att U-proteinkoncentrationen ökade signifikant efter 48 timmar vid förvaring i rumstemperatur respektive efter en vecka i 4 °C. I urinprover analyserade efter en vecka respektive efter två månader förvarade i -20 °C sågs ett högre U-proteinvärde hos en del prover, men förändringen ansågs inte vara viktig ur en diagnostisk synvinkel. Dessutom kunde ingen signifikant förändring observeras angående UPC efter tre månaders förvaring i -20 °C. Av den orsaken blev slutsatsen att urinprover ska analyseras för UPC så snabbt som möjligt (inom fyra timmar) efter uppsamling av urin eller frysas ned för att öka stabiliteten och minska risken för misstolkning (Rossi *et al.* 2012).

En liknande studie utförd av Moyle *et al.* (2018) undersökte hur preanalytiska faktorer påverkade UPC i hundurin. Deras slutsats blev att urinprover kan förvaras i rumstemperatur (~24 °C) i fyra timmar och -20 °C i 72 timmar med minimal effekt på UPC. Dock menar de att prover förvarade vid 4 °C över 12 timmar ska tolkas med försiktighet, då förändringar observerats, men troligtvis var det inte kliniska relevanta förändringar. Studien har dock inte undersökt vad som sker efter fyra timmar i 24 °C, efter 12 timmar i 4 °C eller efter 72 timmar i -20 °C (Moyle *et al.* 2018).

En studie utförd av Théron *et al.* (2017) menade att U-kreatinin, U-protein och UPC inte påverkades av förvaring i rumstemperatur efter fem dagar. Dock observerades att U-kreatininkoncentrationen förändrades olika vid förvaring i 4 °C beroende på om urinprovet kom från hundar med proteinuri eller avsaknad av proteinuri. En signifikant minskning (10 %) av U-kreatinin hos hundar med proteinuri sågs efter fem dagar vid förvaring i 4 °C. Hos hundar utan proteinuri sågs däremot en ökad koncentration av U-kreatinin efter två dagars förvaring i 4 °C. I samma studie påvisade en signifikant minskning av U-proteinkoncentrationen från hundar utan proteinuri vid förvaring i 4 °C efter fem dagar samt efter förvaring i -20 °C och -80 °C i över 15 dagar. Hos hundar med proteinuri observerades en signifikant minskning av U-protein efter 180 dagar i -20 °C samt -80 °C, medan U-proteinkoncentrationen inte påverkades vid förvaring i 4 °C (Théron *et al.* 2017).

Herrington *et al.* (2016) undersökte stabiliteten hos urin-albumin/kreatininkvot hos människa. Gränsen för minskad stabilitet i studien var ± 5 %. Resultaten visade att urinprover samlade i behållare med konserveringsmedel som förvarades i 18 °C eller lägre var hållbara i sju dagar. Om proverna förvarades mellan 18–30 °C bör de analyseras inom två dagar för att undvika preanalytiska fel. Prover som frystes i -40 °C eller -80 °C i sex månader var också lämpliga att analysera (Herrington *et al.* 2016).

En studie (Monti *et al.* 2012) utförd avseende cystatin C i hundurin observerade att U-cystatin C är stabilt i 72 timmar i rumstemperatur, en vecka i 4 °C, en månad i -20 °C och tre månader i -80 °C (Monti *et al.* 2012). En annan studie (Lee *et al.* 2014) utförd på U-cystatin C hos råttor jämförde prover analyserade direkt efter provtagningstillfället med prover som förvarats i 20 °C, 4 °C och -70 °C under 6, 24 och 48 timmar samt vid 144 timmar (6 dagar). Studien rapporterade att U-cystatin C var stabil efter 48 timmar vid förvaring i 20 °C, 4 °C och -70 °C. Efter 6 dagar minskade U-cystatin C signifikant vid förvaring i 20 °C, 4 °C och -70 °C, jämfört med omedelbart efter provtagning. Studiens slutsats blev att urinprov bör analyseras inom 48 timmar från uppsamlingstillfället, oavsett undersökta förvaringstemperaturer (Lee *et al.* 2014). Andra studier utförda på urin från människa har indikerat på att cystatin C var stabilt under en längre period. Dock har studierna studier rapporterat olika resultat för hur länge ett prov var stabilt. I rumstemperatur påvisade Suárez-Fernández *et al.* (2019) att U-cystatin C minskade efter 10 dagar medan Herget-Rosenthal *et al.* (2004) upptäckte stabilitetsproblem redan efter tre dagars förvaring. Herget-Rosenthal *et al.* (2004) rapporterade att U-cystatin C var stabilt i sju dagar vid 4 °C förvaring, liknande resultat fick Ji *et al.* (2018) som visade på stabilitet i sex dagar. I frysförvaring (-20°C) fann Ji *et al.* (2018) stabilitet i U-cystatin C efter 15 dagar, medan Suárez-Fernández *et al.* (2019) rapporterat att U-cystatin C var stabilt efter 34 dagar. Herget-Rosenthal *et al.* (2004) resultat visade att U-cystatin C var stabilt i sju dagar, men minskade med 30,8 % efter förvaring i 28 dagar i -20 °C.

Worth *et al.* (1980) har publicerat en studie som rapporterade att glukos var stabilt i urin hos människa. Vid förvaring i rumstemperatur respektive 4 °C i sex veckor påvisades ingen signifikant förändring av glukosnivån i urinproverna. I studien användes en hexokinas-metod. En annan studie (Froom *et al.* 2000) på humanurin, där stabiliteten hos olika urinanalyser undersöktes med dipstix visade att glukos var stabilt i 24 timmar i 4 °C.

I en studie (Remer *et al.* 2014) undersöktes långtidsförvaring av urin från barn förvarad i -22 °C, där de rapporterade att natrium, kalium och kalcium var några av de parametrar som hade hög stabilitet efter 15 år. Mindre stabilt var klorid och fosfat

(Remer *et al.* 2014). En studie (Soliman *et al.* 1986) redogjorde för att U-urea var stabilt vid förvaring i -15 °C efter sju dagar.

Material och metod

Studiedesign

I den initiala delen av studien ingick urin från 5 stycken friska hundar, där samtliga djurägare hade gett sitt medgivande till att hundarna inkluderades i studien. Hundarna som inkluderades i studien rekryterades via personliga kontakter och djurägaren fick fylla i ett formulär med frågor kring hundarnas hälsa. Eftersom studien fokuserade på hållbarhet och inte på den diagnostiska roll de olika kemiska variablerna har, samlades urinprov in oavsett hundens ålder, kön och ras. Urin som undersöktes var spontankastat morgonurin som djurägaren samlade själv från sin hund första dagen för studien. Minst 10 ml urin samlades i en plastbehållare.

Urinprovet centrifugerades (2100 x g i 10 min) och supernatanten överfördes till nytt provrör och sedimentet kasserades. Proverna alikvoterades i eppendorfrör, märktes och analyserades dag 0. Eppendorfrören förvarades mörkt i rumstemperatur (~20–24 °C), i kyl (4 °C) och frys (-20 °C). Prover som förvarades i rumstemperatur och i 4 °C analyserades dag 1, 2, 3, 4 och 7. Prover som förvarades i -20 °C analyserades dag 7 och efter 33–49 dagar. De frysta och kylda proverna nådde rumstemperatur innan analys utfördes.

För att välja ut lämpliga hundar till hållbarhetsstudien genomfördes en preprovtagning innan studiens början, där djurägaren samlade ca 10 ml spontankastad morgonurin i ett provrör. Specifik vikt analyserades med refraktometer (ATAGO Master-URC/Na U.G.1.000-1.050, ATAGO co LTD, Tokyo, Japan). Specifik vikt mellan 1,020–1,050 var kriteriet för att hunden skulle inkluderas i studien. Hundar med lägre specifik vikt än 1,020 har utspädd urin, vilket kan leda till låga koncentrationer av kemiska metaboliter som blir svåra att analysera och tolka.

Prover

Proverna från den initiala delen av studien alikvoterades i 18 eppendorfrör per hund. 14 eppendorfrör med 0,5 ml supernatant samt 4 eppendorfrör med 0,380 ml. Proverna märktes med en bokstav för respektive hund (A, B, C, D, E), samt 6 stycken R (rumstemperatur), 4 stycken RS (rumstemperatur surgjorda), 6 stycken K (kyl) och 2 stycken F (frys) för respektive hund. Proverna förvarades enligt följande: F-rör placerades i -20 °C, K-rören placeras i kylskåp (4 °C) och R-rören förvarades mörkt i rumstemperatur (~20–24 °C). En del av proverna surgjordes för analys av kalcium och fosfat. Proverna surgjordes genom att 20 µL HCl (3,2 M)

tillsattes till 0,380 ml supernatant minst 30 min före analys, det gjorde att spädningen på proverna blev 1:20.

Studien kompletterades med 3 stycken patientprover (prov F-H), med högre urin-proteinvärden, som inkom till kliniska kemiska laboratoriet på universitetsdjursjukhuset, Uppsala. Utifrån tillgänglig provvolym och veckodag som provet ankom till laboratoriet så kunde hela eller delar av studiedesignen genomföras (tabell 1). En sista del av studien innefattade 4 stycken urinprover (prov I-L) från friska hundar, som rekryterades via personliga kontakter. Proverna analyserades avseende U-Na, U-glukos, U-cystatin C och U-protein enligt studiedesignen. Dessa prover kompletterade de analyser där det var färre än 5 prover eller där något av de tidigare proverna tydligt avvek från mönstret i hållbarhetsstudien.

Tabell 1. Beskrivning vilka dagar och temperaturer prov F-L analyserades.

<i>Analyserade dagar och temperaturer för prov F-L</i>							
Prov	Antal alikhvoter	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Dag 4	Dag 7	33–49 dagar
F	12	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	-	Rumstemp 4 °C -20 °C	-20 C°
G	5	Rumstemp	-	-	Rumstemp	Rumstemp -20 °C	-
H	12	Rumstemp 4 °C	-	-	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C -20 °C	-20 C°
I	12	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C -20 °C	-
J	12	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C -20 °C	-
K	12	Rumstemp 4 °C	Rumstemp, 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C -20 °C	-
L	12	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	Rumstemp 4 °C	-	Rumstemp 4 °C -20 °C	-

Analysmetoder

De kemiska urinvariablerna som analyserades var: kreatinin, cystatin C, urea, glukos, protein, natrium (Na), kalium (K), klorid (Cl), kalcium (Ca) och fosfat (P). Urinproverna analyserades med ett automatiserat biokemiinstrument, Architect c4000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA) under september, oktober och november 2020 på klinisk kemiska laboratoriet på Universitetsdjursjukhuset, SLU Uppsala. Kreatinin, urea, glukos, protein, Ca och P analyserades med kemisk metod (spektrofotometri) och elektrolyterna analyserade med jonspecifik elektrod, med reagens från Abbott Laboratories, medan cystatin C analyserades med immuno-urbidometrisk metod från Gentian AB (1509 Moss, Norway). Innan proverna analyserades genomfördes kvalitetskontroll med två kontrollprov, en kommersiell urinkontroll, uTrol (Thermo scientific, Vantaa, Finland) och en egentillverkad kontroll med fryst hundurin.

Statistik

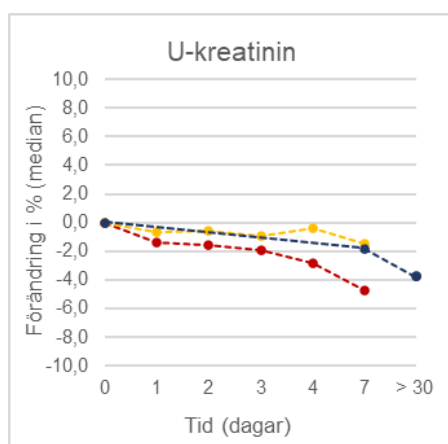
Medianvärden beräknades och resultaten presenterades som procentuell förändring över tid. För att korrigera för tillsatsen HCl (spädning 1:20) i de surgjorda proverna multiplicerades resultatet med 1.05.

Resultat

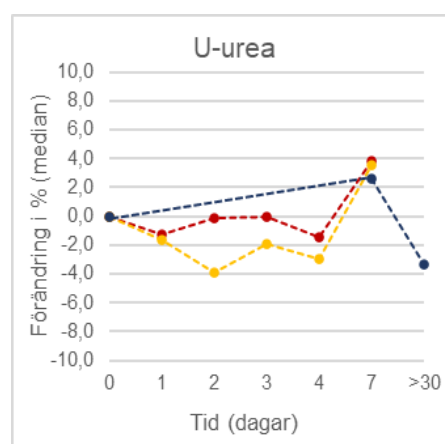
Initialt analyserades urin från fem friska hundar. Några prover med mycket låga koncentrationer av variabeln exkluderades ur studien (bilaga 1), eftersom värden under metodens mätområde inte lämpar sig för studier av hållbarhet. Det är normalt med låga koncentrationer av protein och cystatin C i urin hos friska hundar, av den orsaken var koncentrationen av protein och cystatin C lågt hos flera av hundarna som initialt inkluderades till studien. Av den orsaken kompletterades studien med tre stycken patientprover med avseende analys för U-protein och U-cystatin C. I en sista del av studien inkluderades fyra stycken urinprover från friska hundar för att uppnå tillräckligt många prover för att studera hållbarheten även för U-cystatin C, U-protein, U-glukos och U-natrium.

Sex variabler (U-kreatinin, U-urea, U-Na, U-K, U-Cl, U-P) uppvisade god hållbarhet vid alla undersökta temperaturer och alla analystillfällen. Alla provresultat låg inom $\pm 10\%$ jämfört med dag 0, vilket bedöms som godtagbart stabilt för kliniska prover. I figur 1–3 visas förändring (median) som procentuell förändring jämfört med dag 0. U-Na och U-Cl hade en variation mellan $\pm 2\%$ (median $-0,5\%$ till -1%) i alla undersökta temperaturer. U-K hade högst en förändring på -4% (median $-1,1\%$) i alla undersökta temperaturer. U-urea och U-P hade en variation mellan $\pm 6\%$ (median $\pm 4\%$) i alla undersökta temperaturer. U-kreatinin hade som högst en förändring på -7% (median 5%) efter sju dagars förvaring i rumstemperatur.

a)

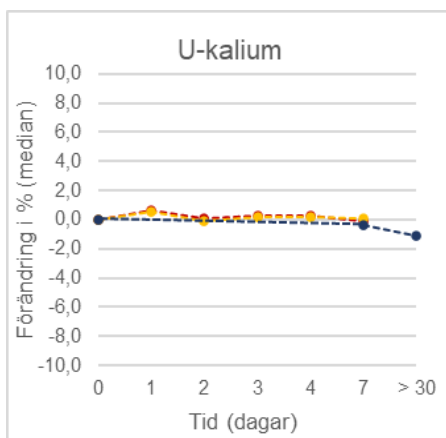


b)

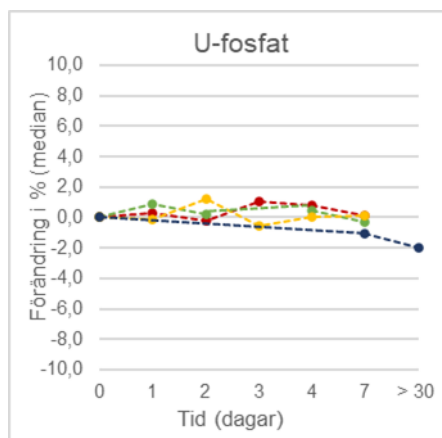


Figur 1. Procentuella förändringen över tid för a) U-kreatinin (n=5) och b) U-urea (n=5) vid förvaring i rumstemperatur (röd linje), 4 °C (gul linje) och -20 °C (blå linje).

a)

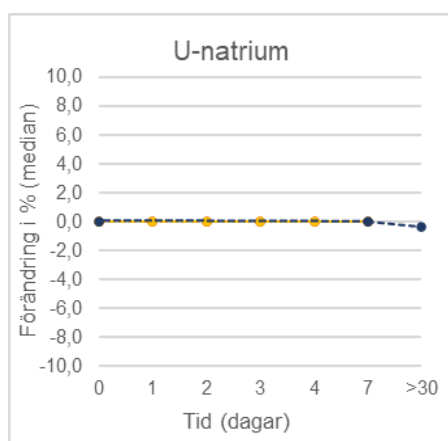


b)

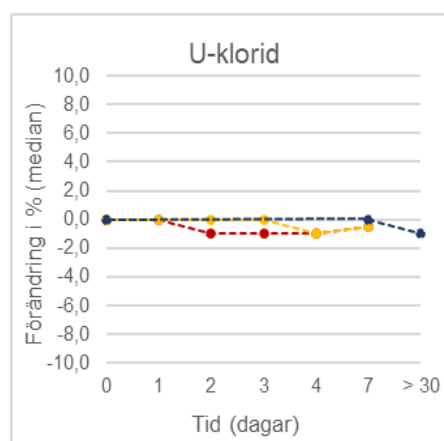


Figur 2. Procentuella förändringen över tid för a) U-kalium (n=5) och b) U-fosfat (n=4) vid förvaring i rumstemperatur (röd linje), rumstemperatur surgjord (grön linje), 4 °C (gul linje) och -20 °C (blå linje).

a)



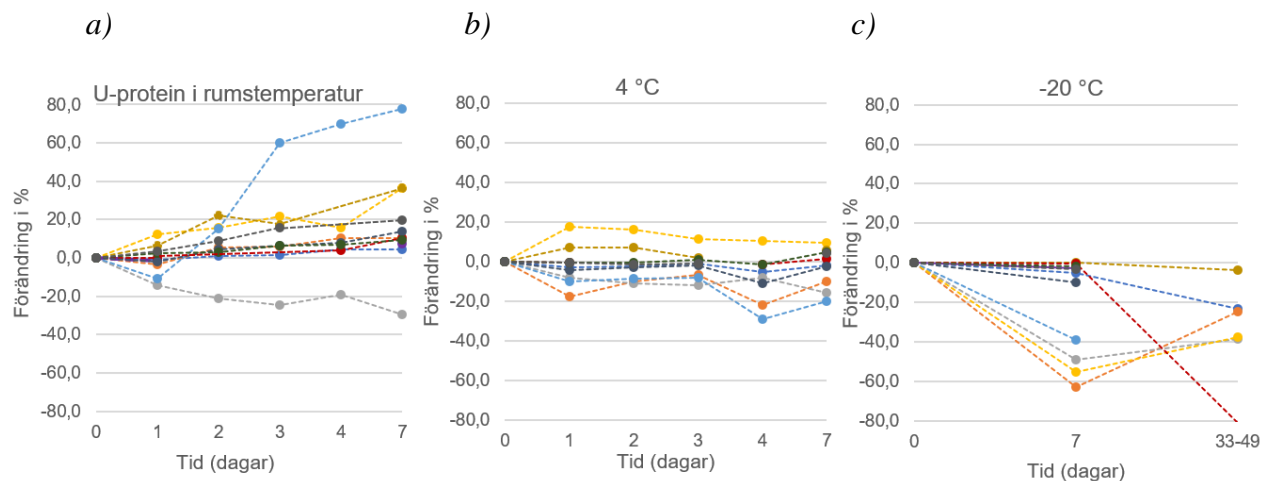
b)



Figur 3. Procentuella förändringen över tid för a) U-natrium (n=5), (-20 °C 33-49d, n= 2) och b) U-klorid (n=5) i förvaring i rumstemperatur (röd linje), 4 °C (gul linje) och -20 °C (blå linje).

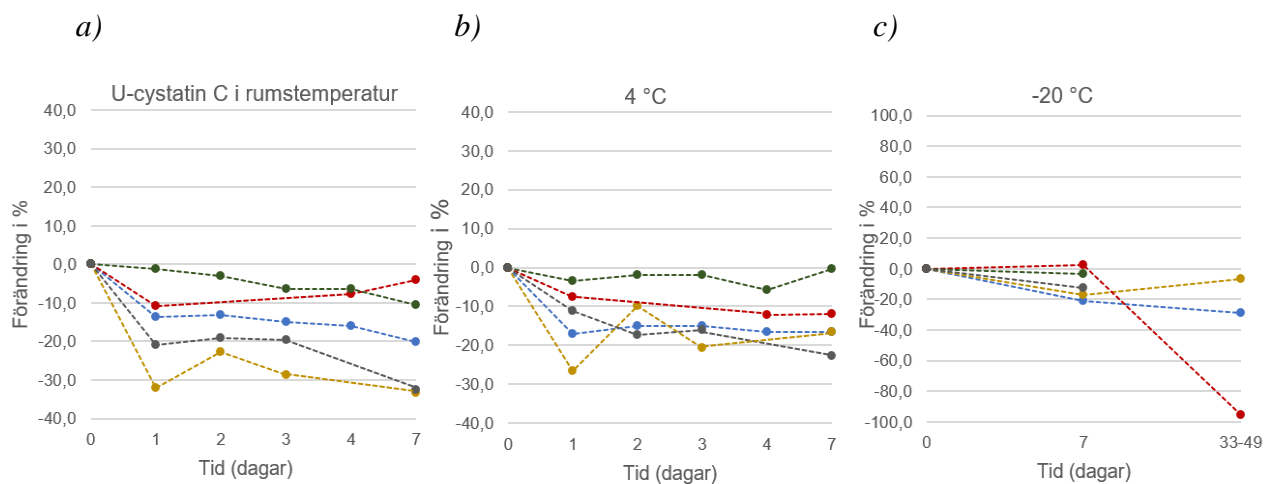
De övriga metaboliterna hade mer varierande hållbarhet och därför visas diagram för varje prov för respektive temperatur. Färgkoderna för proverna i figurerna överensstämmer i alla diagram.

U-protein resultaten efter förvaring i rumstemperatur och 4 °C var inom ± 20 % de första två dagarna för alla prover, respektive inom ± 25 % de första fyra dagarna för alla prover utom ett prov som steg med 60 % redan dag 3 (figur 4 och tabell 2). Efter förvaring i -20 °C i sju respektive 33–49 dagar var det stor variation i hållbarheten hos de olika proverna och U-proteinkoncentrationen i några prover minskade kraftigt.



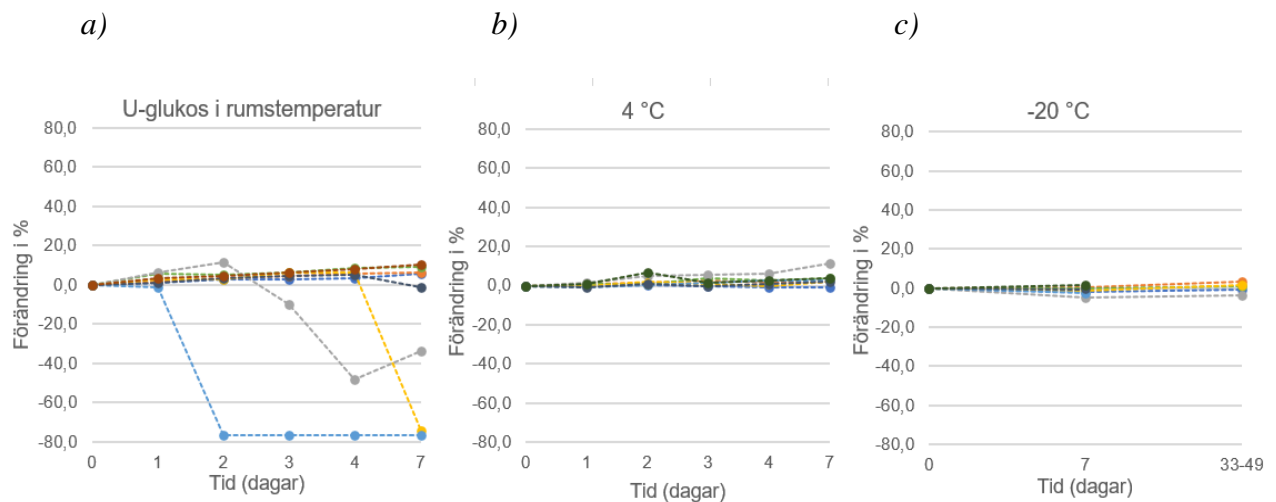
Figur 4. Procentuella förändringen över tid för U-protein vid a) förvaring i rumstemperatur (n=11) b) förvaring i 4 °C (n=10) c) förvaring i -20 °C (7 dagar n=11 och 33–49 d, n=6).

U-Cystatin C-koncentrationerna minskade i alla prover efter förvaring i rumstemperatur och 4 °C. Efter en dags förvaring i rumstemperatur och 4 °C sjönk urinproverna som mest med 32 % (median 14%), sedan varierar proverna mellan 0 % och -33 % förändring dag 2 till 7. Ett prov var under metodens mätområde (0,01 mg/L) för U-cystatin C dag 7. Efter förvaring i -20 °C i sju dagar sjönk proverna maximalt -21 % (figur 5). Efter 33–49 dagar i -20 °C minskade U-cystatinkoncentrationen kraftigt i samma prov där även proteinkoncentrationen sjönk kraftigt.



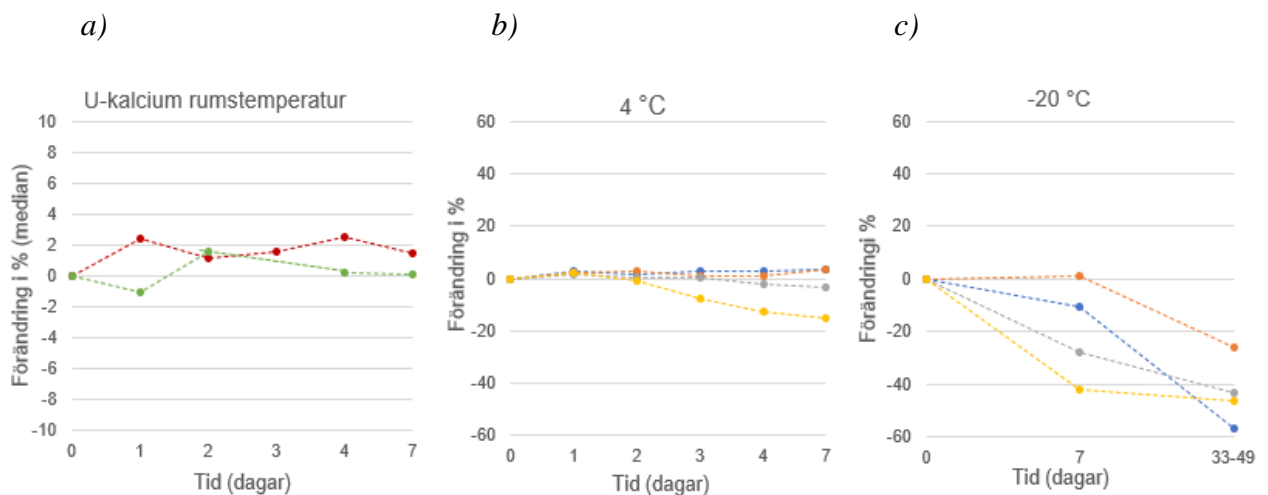
Figur 5. Procentuella förändringen över tid för U-cystatin C vid a) förvaring i rumstemperatur (n=5) b) förvaring i 4 °C (n=5) c) förvaring i -20 °C (7 dagar n=5 och 33–49 d, n=3).

U-glukos förändrades mindre än ± 10 % under de första fyra dagarna om provet förvarades i 4 °C eller under hela studietiden i -20 °C. I rumstemperatur var däremot hållbarheten för glukos i urin mycket varierande. Fyra prover var inom ± 10 % i sju dagar, medan tre prover sjönk kraftigt efter 2, 4 respektive 7 dagar. Ett prov var under metodens mätområde (0,05 mmol/L) från dag två till dag sju (figur 6).



Figur 6. Procentuella förändringen över tid för U-glukos vid a) förvaring i rumstemperatur (n=8) b) förvaring i 4 °C (n=8) c) förvaring i -20 °C (7 dagar n=8 och 33–49 d, n=5).

I rumstemperatur förändrades U-kalcium inom ± 10 % efter sju dagars förvaring, oavsett om proven var surgjorda eller inte. Proverna surgjordes för att lösa upp kalcium- och magnesiumutfällning som kan ske vid komplexbildning med anjoner (exempelvis fosfat). Vid 4 °C förändras proverna inom ± 5 % fram till dag 3, då ett prov avvek och fortsatte sjunka till -15% fram till dag 7. Under förvaring i -20 °C minskade koncentrationen av kalcium i urin som mest med 42 % efter 7 dagar respektive 57 % efter 33–49 dagars förvaring (figur 7).



Figur 7. a) Procentuella förändringen (median) över tid för U-kalcium vid förvaring i rumstemperatur, icke-surgjord (röd linje) (n=4) och surgjord (grön linje) (n=4) b) Procentuella förändringen över tid vid förvaring i 4 °C (n=4) c) förvaring i -20 °C (n=4).

Tabell 2. Procentuell förändring (median) över tid (dagar) för U-protein, U-cystatin C, U-glukos och U-kalcium (icke-surgjord) vid olika förvaringsförhållanden.

Förändring i procent (median) vid olika temperaturer över tid (dagar)												
	Rumstemperatur					Kyl					Frys	
Dagar	1	2	3	4	7	1	2	3	4	7	7	33–49
<i>Protein</i>	-1	5	7	7	11	-2	-3	-1	-7	0	-5	-31
<i>Cystatin C</i>	-14	-16	-17	-8	-20	-11	-13	-16	-12	-17	-13	-29
<i>Glukos</i>	2	3	4	5	2	0	1	2	2	2	-1	1
<i>Kalcium</i>	2	1	2	3	2	2	1	1	0	0	-5	-45

Diskussion

Försenad analys i och med transport av prover till laboratorium kan leda till felaktiga resultat om ämnet som ska analyseras inte är stabilt, av den orsaken är det viktigt att undersöka vilken förändring som sker i provet över tid. Förutom en del hållbarhetsstudier avseende U-protein/kreatininkvot hos hund, finns det få publicerade studier som beskriver hållbarhet för kemiska variabler i urin och dessa gäller oftast urin från människa. Syftet med denna studie var att undersöka om det sker en förändring som bedöms kunna ändra den kliniska tolkningen. Resultaten presenterades som procentuell förändring över tid och om förändringarna var inom ± 10 % bedömdes variabeln vara godtagbart stabil för kliniska prover. Det är en stabilitetsgräns som har använts i tidigare studier om hållbarhet hos blodanalyser (Livesey *et al.* 1980; Evans *et al.* 2001). Vid bedömning av förändringar utanför ± 10 % har klinisk frågeställning och data på biologisk variation ingått i bedömningen om förändringarna anses ha klinisk betydelse.

Alla elektrolyter (U-natrium, U-kalium och U-klorid) samt U-fosfat, U-kreatinin och U-urea i denna studie hade liten procentuell förändring över tid i rumstemperatur, 4 °C och -20 °C vid alla undersökta tidpunkter. Resultaten i den här studien tyder på att alla dessa metaboliter var stabila i alla undersökta förvaringsförhållanden.

U-kreatinin minskade i alla prover vid alla undersökta temperaturer över tid, som mest med -7 % (median -5 %) efter sju dagar i rumstemperatur. Förändringen var mindre när urinproverna förvarats i 4 °C eller -20 °C i sju dagar respektive i 33–49 dagar. Spierto *et al.* (1997) rapporterade liknande resultat för kreatinin humanurin, då U-kreatinin var stabilt vid förvaring i rumstemperatur respektive i 4 °C under 28 dagar. Rossi *et al.* (2012) analyserade sina prover endast tre dagar och Théron *et al.* (2017) i fem dagar, men även de resultaten visade att U-kreatinin inte förändrades signifikant i rumstemperatur, som ytterligare stödjer resultaten i den här studien. Rossi *et al.* (2012) analyserade U-kreatinin efter tre månaders förvaring i -20 °C utan signifikant förändring, det överensstämmer med den här studiens observationer. Théron *et al.* (2017) rapporterade en minskning av U-kreatinin från hundar med proteinuri vid förvaring i 4 °C efter fem dagar, medan hos hundar utan proteinuri sågs en signifikant ökning av U-kreatinin vid förvaring i 4 °C efter endast två dagars förvaring. I vår studie har det inte gjorts någon uppdelning av höga och låga proteinvärden i urinen, men det finns inget i den här studien som tyder på att U-kreatinin skulle var mindre stabilt vid låga proteinvärden. U-kreatinin i vår studie var stabilt vid alla undersökta temperaturer vid alla analystillfällen. Den biologiska variationen för U-kreatinin i Mårtenssons (2017) studie var betydligt högre med CV_I 20,6 % och RCV 48,6 %.

U-protein hade en förändring inom ± 20 % de första två dagarna i prover som förvarades i rumstemperatur respektive 4 °C. De första fyra dagarna var förändringen inom ± 25 % för alla prover utom ett prov i rumstemperatur som steg med 60 % dag tre. Det provet som steg dag 3 hade en mycket låg koncentration av protein i urinen dag 0. Prover som är mycket utspädda och har låga urinprotein-koncentrationer ger ökad analytisk variabilitet och kan leda till högre procentuella förändringar vid till exempel hållbarhetsstudier. Liknande mönster kunde ses i en studie av Théron *et al.* (2017), där det observerades att hundar med proteinuri hade mindre påverkan på U-protein vid förvaring i 4 °C. Studien rapporterade att U-protein i urin från hundar utan proteinuri förändrades efter fem dagar i 4 °C, medan U-protein i urin från hundar med proteinuri inte påverkades av förvaring i 4 °C. De kunde även se att U-protein var stabilt längre i frysförvaring om urinen kom från hundar med proteinuri. I vår studie fanns dock andra prover med låga U-protein-koncentrationer som inte hade samma kraftiga förändring, men det observerades att prover med högst proteinkoncentration hade en liten förändring, inom ± 11 % efter sju dagars förvaring i rumstemperatur.

Vid studiens början fanns misstankar om att U-proteinkoncentrationen skulle minska på grund av denaturering av proteinerna, men istället ökade U-protein hos flera prover som förvarades i rumstemperatur i den här studien. Detta är resultat som bekräftas av studie från Rossi *et al.* (2012) där U-proteinkoncentrationen ökade över tid efter två dagars förvaring i rumstemperatur. Även Herrington *et al.* (2016) observerade en ökning av U-albuminkoncentrationer hos en del prover efter två dagar i 18–30 °C förvaring. Liknande förändring observerades i vår studie då U-protein ökade i alla prover utom i ett vid förvaring i rumstemperatur. Någon direkt förklaring till varför det sker en ökning av protein i urinen vid förvaring i rumstemperatur finns i dagsläget inte. Rossi *et al.* (2012) diskuterar att ökningen kan bero på dehydrering av proverna under förvaring eller närvaro av bakterieproteiner, vilket dock anses osannolikt. Viktigt att notera att Rossi *et al.* (2012) använt en annan metod än den som använts i den här studien. Herrington *et al.* (2016) tror att en möjlig förklaring till ökningen av U-albumin hos en del prover beror på bakteriekontamination av provet som leder till en ökning av albumin i urinprover.

Moyle *et al.* (2018) menar att urinprover kan förvaras i fyra timmar i rumstemperatur utan att det ger klinisk relevanta förändringar på UPC-kvoten. De har dock inte undersökt vad som sker efter fyra timmar, vilket gör det svårt att jämföra med vår studie då vi inte undersökt förändringar vid fyra timmar utan första mätning vid 24 timmar. Moyle *et al.* (2012) observerade att förändringar skedde vid förvaring i 12 timmar vid 4 °C, man ansåg att de inte var klinisk relevanta förändringar. Vid förvaring i 4 °C i den här studien skedde den största förändringen (-30 %) efter fyra dagars förvaring, innan dag tre var förändringen inom ± 20 %. Resultaten i den

här studien tyder på att förvaring av urinprover som avses att analyseras för U-protein kan förvaras två dagar i rumstemperatur och tre dagar i 4 °C utan att det nämnvärt påverkar den kliniska tolkningen. Efter två dagar i rumstemperatur och tre dagar i 4 °C är inte resultaten lika tillförlitliga på grund av ett avvikande prov. Nivån av förändringarna kan också sättas i paritet med hur mycket U-protein normalt varierar (biologisk variation) hos hund. Ett tidigare examensarbete (Mårtensson 2017) har tagit fram värden för den biologiska och analytiska variationen för U-protein och U-kreatinin. Mårtenssons (2017) studie använder sig av samma analysmetod i samma laboratorium som i den här studien. Den analytiska variationen ansågs som liten för U-protein (5,6 %). För protein var CV_I (variation inom individen) 28,1 % och reference change value (RCV) 66,9 %. Ricós *et al.* (1994) har rapporterat ett CV_I på 48 % för U-protein i urin hos människor. Att den biologiska variationen är större i urin än i blod beror på att variablerna i urin påverkas bland annat av hur utspädd urinen är. Med tanke på begränsad hållbarhet och stor biologisk variation bör små förändringar i U-proteinkoncentrationen tolkas med försiktighet.

U-cystatin C-koncentrationen minskar redan efter en dags förvaring i rumstemperatur och vid 4 °C. Resultaten i den här studien skiljer sig jämfört med tidigare forskningsresultat, då Suárez-Fernández *et al.* (2019) rapporterade betydligt längre hållbarhetstid (10 dagar) för U-cystatin C hos människor i rumstemperatur, medan Lee *et al.* (2014) rapporterade att U-cystatin C hos råttor var stabilt upp till sex dagars förvaring i rumstemperatur. Monti *et al.* (2012) rapporterade stabilitet i tre dagar för U-cystatin C i hundurin och även Herget-Rosenthal *et al.* (2004) observerade stabilitetsproblem efter tre dagar vid rumstemperatur i humanurin, vilket ändå var längre tid än vad som observerats i den här studien. Tidigare studier har visat att U-cystatin C hos människor var stabil i -20 °C i 15 dagar (Ji *et al.* 2018), upp till 28 dagar (Herget-Rosenthal *et al.* 2004) och efter 34 dagar (Suárez-Fernández *et al.* 2019). Även Monti *et al.* (2012) rapporterade stabilitet efter en månad hos cystatin C i hundurin som förvarats i -20 °C. Resultaten i den här studien avviker från tidigare studier och har inte kunnat bevisa att cystatin C i hundurin var stabilt vid förvaring i -20 °C. Efter sju dagar i -20 °C sjönk proverna maximalt -21 %. Efter 33–49 dagar analyserades endast tre prover, vilka varierar kraftigt i förändring. Det gör det svårt att tolka resultaten och hållbarheten för U-cystatin C i hundurin vid -20 °C. Urinen kom framför allt från friska hundar i den här studien, vilket gjorde att flera av variablerna hade låga koncentrationer och som nämnts tidigare leder det till kraftiga förändringar i procentandelar. Att det var få antal prover som förvarats i -20 °C gör att resultaten ska tolkas med försiktighet. Fler studier med fler antal prover med högre koncentration av U-cystatin C i urinen hos hund behövs för att kunna säkerställa hållbarheten över tid.

U-glukos i rumstemperatur hade mycket varierande hållbarhet, då tre prover minskade kraftigt efter två, fyra respektive sju dagar. Ett av dessa prover hade låg koncentration av U-glukos och var under metodens mätområde dag sju. Resterande fyra prover var stabila i sju dagar. Vid förvaring i 4 °C var U-glukos stabil i fyra dagar och vid -20 °C under hela studietiden. Resultaten i den här studien avviker från tidigare publicerad studie av Worth *et al.* (1980) som rapporterade hållbarhet i sex veckor i humanurin vid förvaring i rumstemperatur och i 4 °C. Att U-glukos i proverna sjönk kraftigt i den här studien beror troligtvis inte på närvaro av celler som förbrukar glukos, eftersom alla prover centrifugerades när provet var färskt och endast avseparerad supernatant förvarades och analyserades. Resultaten från den här studien tyder på att U-glukos helst bör analyseras inom 24 timmar vid förvaring i rumstemperatur. Om provet förvarats i 4 °C har det längre hållbarhet men bör analyseras inom fyra dagar. Om provet fryses ned till -20 °C kan analysen ske efter 33–49 dagar utan att den kliniska tolkningen påverkas.

U-kalcium var stabilt i rumstemperatur i minst sju dagar, oavsett om proverna surgjorts eller inte. Tidigare studier har visat att förurning inte har någon effekt på uppmätt U- (Sodi *et al.* 2009). I den här studien hade surgöring ingen påverkan på resultaten vid förvaring i rumstemperatur. I 4 °C förvaring var tre prover inom ± 5 % i sju dagar, medan ett prov sjönk under 10 % dag fyra. Proverna minskade som mest med -16 %. Enligt en studie om biologisk variation hos människor (Gowans & Fraser 1987) var CV_I (variation inom individen) 31,4 % i urin. Så sannolikt är hållbarheten acceptabel även vid 4 °C efter sju dagar. Efter förvaring i -20 °C i sju dagar hade proverna en stor variation i procentuell förändring. Efter 33–49 dagars förvaring sjönk alla prover med mer än 25 %. Resultaten tyder på att U-Ca inte bör frysas före analys. Det avviker från en tidigare publicerad studie (Remer *et al.* 2014) som rapporterat att U-Ca var en av de parametrar som hade hög stabilitet i humanurin efter förvaring i 15 år i vid temperatur -22 °C.

Begränsningar av studien inkluderar, som tidigare diskuterats, att urinprover som har låga koncentrationer av kemiska metaboliter orsakar en ökad storlek av den analytiska variabiliteten och kan leda till stora procentuella förändringar vid hållbarhetsstudier. Fler studier krävs för att kunna säkerställa hållbarhet för de variabler som har stora och framförallt varierande förändringar i denna studie. Dessutom var det relativt få prover som inkluderades i studien, vilket leder till att en del variabler blev svåra att bedöma. Ytterligare begränsningar var analytiska fel som kan uppstå med metoden och begränsning i metodens mätområde. Preanalytiska fel som exempelvis att prover blandas ihop eller olika personal som analyserar prover är mindre troliga, men möjliga faktorer som kan påverka resultatet.

Sammanfattningsvis indikerar resultaten i studien på att sju (U-kreatinin, U-urea, U-Na, U-K, U-Cl, U-P och U-Ca) av de tio utvärderade urinvariablerna var stabila vid förvaring i rumstemperatur i minst fyra dagar, vilket innebär att de vanligtvis klarar transport till laboratorium utan kylförvaring.

Referenser

- Bennett, S., Abraham, L., Anderson, G., Holloway, S. & Parry, B. (2006). Reference limits for urinary fractional excretion of electrolytes in adult non-racing Greyhound dogs. *Australian Veterinary Journal*, 84: 393-397.
- Braun, J.-P. & Lefebvre, H. P. (2008). Kidney function and damage. I: J. K. Kaneko, J. W. Harvey, & M. L. Bruss (red), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6 ed. San Diego: Elsevier Science & Technology, 485-528.
- Brown, N., Segev, G., Francey, T., Kass, P. & Cowgill, L. (2015). Glomerular filtration rate, urine production, and fractional clearance of electrolytes in acute kidney injury in dogs and their association with survival. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29:28-34.
- Burton, C. & Harris, K. (1996). The role of proteinuria in the progression of chronic renal failure. *American Journal of Kidney Diseases*, 27:765-775.
- Conti, M., Moutereau, S., Zater, M., Lallali, K., Durrbach, A., Manivet, P. & Loric, S. (2006). Urinary cystatin C as a specific marker of tubular dysfunction. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 44:288-291.
- Dalanghe, J. R. & Speeckaert, M. M. (2016). Preanalytics in urinalysis. *Clinical Biochemistry*, 49:1346-1350.
- Damm, E. (2020). *Koncentration av kemiska metaboliter i urin hos friska hundar*. (Självständigt arbete, Avancerad nivå, A2E). Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet. Tillgänglig: <https://stud.epsilon.slu.se/15873/>
- Dolscheid-Pommerich, R. C., Klarmann-Schulz, U., Conrad, R., Stoffel-Wagner, B. & Zur, B. (2016). Evaluation of the appropriate time period between sampling and analyzing for automated urinalysis. *Biochemia Medica*, 26:82-89.
- Evans, M. J., Livesey, J. H., Ellis, J. M. & Yandle, T. G. (2001). Effect of anticoagulants and storage temperatures on stability of plasma and serum hormones. *Clinical Biochemistry*, 34: 107-112
- Fraser, C. G. (2004). Inherent biological variation and reference values. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 42:758-764.
- Froom, P., Bieganiec, B., Ehrenrich, Z. & Barak, M. (2000). Stability of common analytes in urine refrigerated for 24 h before automated analysis by test strips. *Clinical Chemistry*, 46:1384-1386.
- Gowans, E. M. & Fraser, C. G. (1987). Biological variation in analyte concentrations in apparently healthy men and women. *Clinical Chemistry*, 33:847-850.
- Herget-Rosenthal, S., Feldkamp, T., Volbracht, L. & Kribben, A. (2004). Measurement of urinary cystatin C by particle-enhanced nephelometric immunoassay: precision, interferences, stability and reference range. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, 41:111-118.

- Herrington, W., Illingworth, N., Staplin, N., Kumar, A., Storey, B., Hrusecka, R., . . . Clark, S. (2016). Effect of processing delay and storage conditions on urine albumin-to-creatinine ratio. *Clinical Journal of American Society of Nephrology*, 11:1794-1801.
- Ji, H., Shen, L., Shi, X., Su, J., Tang, Z., Wang, H., . . . Wang, J. (2018). Establishment of an absolute quantitative method for measurement of urinary cystatin C by stable isotope dilution ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytical Methods*, 10:5236-5241.
- Laroute, V., Chetboul, V., Roche, L., Maurey, C., Costes, G., Pouchelon, J.-L., . . . Lefebvre, H. (2005). Quantitative evaluation of renal function in healthy Beagle puppies and mature dogs. *Research in Veterinary Science*, 161-167.
- Lee, J.-M., Han, Y.-H., Choi, S.-J., Park, J.-S., Jang, J.-J., Bae, R.-J.-N., . . . Kang, J.-K. (2014). Variation of nephrotoxicity biomarkers by urinary storage condition in rats. *Toxicological Research*, 30: 305-309.
- Lennon, E. M., Hummel, J. B. & Vaden, S. L. (2018). Urine sodium concentrations are predictive of hypoadrenocorticism in hyponatraemic dogs: a retrospective pilot study. *Journal of Small Animal Practice*, 59:228-231.
- Livesey, J., Hodgkinson, S., Roud, H. & Donald, R. (1980). Effect of time, temperature and freezing on the stability of immunoreactive LH, FSH, TSH, growth hormone, prolactin and insulin in plasma. *Clinical Biochemistry*, 13:151-155.
- Martorelli, C. R., Kogika, M. M., Chacar, F. C., Caragelasco, D. S., Brandão de Campos Fonseca Pinto, A. C., Aparecida Batista Lorigados, C. & Conceição Andrade, L. (2017). Urinary fractional excretion of phosphorus in dogs with spontaneous chronic kidney disease. *Veterinary Sciences*. 4:p.67.
- Monti, P., Benckekroun, G., Berlato, D. & Archer, J. (2012). Initial evaluation of canine urinary cystatin C as a marker of renal tubular function. *Journal of Small Animal Practice*, 53:254-259.
- Moyle, P. S., Specht, A. & Hill, R. (2018). Effect of common storage temperatures and container types on urine protein: creatinine ratios in urine samples of proteinuric dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32:1652-1658.
- Nelson, R. W. & Couto, C. G. (2014). *Small Animal Internal Medicine* (5 ed.). St. Louis: Elsevier Mosby.
- Osborne, C. A. & Stevens, J. B. (1999). *Urinalysis: A Clinical Guide to Compassionate Patient Care*. Shawnee Mission, Kansas : Bayer.
- Parekh, R. S., Linda Kao, W., Meoni, L. A., Ipp, E., Kimmel, P. L., La page, J., . . . Klag, M. J. (2007). Reliability of urinary albumin, total protein, and creatinine assays after prolonged storage: the family investigation of nephropathy and diabetes. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2:1156-1162.
- Piech, T. L. & Wycislo, K. L. (2019). Importance of urinalysis. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 49:233-245.

- Pressler, B. M. (2013). Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 49:1193-1208.
- Remer, T., Montenegro-Bethancourt, G., & Shi, L. (2014). Long-term urine biobanking: Storage stability of clinical chemical parameters under moderate freezing conditions without use of preservatives. *Clinical Biochemistry*, 47:307-311.
- Ricós, C., Cava, F., García-Lario, J., Hernández, A., Iglesias, N., Jiménez, C., . . . Álvarez, V. (2004). The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 64:175-184.
- Ricós, C., Jiménez, C., Hernández, A., Simón, M., Perich, C., Alvarez, V., . . . Macía, M. (1994). Biological variation in urine samples used for analyte measurements. *Clinical Chemistry*, 40:472-477.
- Rossi, G., Giori, L., Campagnola, S., Zatelli, A., Zini, E. & Paltrinieri, S. (2012, june). Evaluation of factors that affect analytic variability of urine protein-to-creatinine ratio determination in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 73:779-788.
- Sava, L., Pillai, S., More, U. & Sontakke, A. (2005). Serum calcium measurement: Total versus free. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 20:158-161.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2010). *Physiology of Domestic Animals* (2 ed.). Norway: Scandinavian Veterinary Press.
- Sodi, R., Bailey, L., Glaysher, J., Allars, L., Roberts, N., Marks, E. & Fraser, W. (2009). Acidification and urine calcium: is it a preanalytical necessity? *Annals of Clinical Biochemistry*, 46:484-487
- Soliman, S. A., Abdel-Hey, M. H., Sulaiman, M. I. & Tayeb, O. S. (1986). Stability of creatinine, urea and uric acid in urine stored under various conditions. *Clinica Chimica Acta*, 160:319-326.
- Spierto, F., Hannon, W., Gunter, E. & Smith, S. (1997). Stability of urine creatinine. *Clinica Chimica Acta*, 264:227-232.
- Suárez-Fernández, A., González-Antuña, A., Rodríguez-González, P. & García Alonso, J. (2019). Determination of Cystatin C in human urine by isotope dilution tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 177:1-9.
- Théron, M.-L., Piane, L., Lucarelli, L., Henrion, R., Layssol-Lamour, C., Palanché, F., . . . Lavoué, R. (2017). Effects of storage conditions on results for quantitative and qualitative evaluation of proteins in canine urine. *American Journal of Veterinary Research*, 78:990-999.
- Troía, R., Gruarin, M., Grisetti, C., Serafini, F., Magna, L., Monari, E., . . . Dondi, F. (2018). Fractional excretion of electrolytes in volume-responsive and intrinsic acute kidney injury in dogs: Diagnostic. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32:1372-1382.

- Vanmassenhove, J., Glorieux, G., Hoste, E., Dhondt, A., Vanholder, R. & Van Biesen, W. (2013). Urinary output and fractional excretion of sodium and urea as indicators of transient versus intrinsic. *Critical Care*, 17:R234.
- Waldrop, J. E. (2008). Urinary electrolytes, solutes, and osmolality. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38:503-512.
- Watson, A., Lefebvre, H. P., Concordet, D., Laroute, V., Ferré, J.-P., Braun, J.-P., . . . Toutain, P.-L. (2002). Plasma exogenous creatinine clearance test in dogs: comparison with other methods and proposed limited sampling strategy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16:23-33.
- Worth, R. D., Harrison, J. & Skillen, A. W. (1980, may 1). Stability of glucose in urine. *Clinical Chemistry*, 26:789.
- Zeugswetter, F. K. & Schwendenwein, I. (2020). Basal glucose excretion in dogs: The impact of feeding, obesity, sex, and age. *Veterinary Clinical Pathology*, 00:1-8.

Tack

Stort tack till handledare Inger Lilliehöök och bitr. handledare Anna Selin för engagemang och god handledning under arbetets gång. Tack till personalen på klinisk kemiska laboriet vid Universitetsdjursjukhuset för analys av prover och trevligt bemötande. Tack till alla som bidragit med urinprover från sina hundar.

Populärvetenskaplig sammanfattning

Urin innehåller mycket information om vad som sker i kroppen. För att kunna upptäcka olika sjukdomstillstånd samlas ofta urinprov från djur vid besök hos veterinär. Ökad förekomst av vissa biokemiska ämnen, exempelvis cystatin C och protein i urinen, kan tala för sjukdomar i njurar på grund av läckage eller minskad återresorption i njuren. Vid diabetes mellitus ses ofta ökad glukos i urinen, medan brist på hormonet aldosteron kan leda till förändrad utsöndring av natrium i urin. För att kompensera för att urin kan ha mycket varierande koncentration kvoterar ofta koncentrationen av de olika biokemiska ämnena med urin-kreatinin.

För att kunna upptäcka sjukdomar i urinvägar men även andra sjukdomar är det viktigt med en korrekt uppsamling, transport, provberedning och analys av urinprover. Vissa urinprover behöver skickas till ett laboratorium för analys och det sker ofta via post. Om ämnet som ska analyseras inte är stabilt i den temperatur som det skickas i, kan ämnets koncentration förändras i urinprovet. Det medför att resultaten kan bli felaktiga, som sedan kan leda till felaktiga diagnoser. Därför ville vi undersöka hållbarheten hos tio olika biokemiska metaboliter i hundurin genom att förvara hundurinprover i olika temperaturer och jämföra resultaten med koncentrationen när provet var färskt.

De ämnen som undersöktes i urinen var: kreatinin, urea, glukos, cystatin C, protein, natrium, kalium, klorid, kalcium och fosfat. I studien ingick 12 urinprover, varav nio stycken kom från friska hundar. Djurägaren samlade upp urin från sin hund på morgonen dag 0 för studien. Studien kompletterades med tre stycken patientprover från hundar med högre koncentrationer av vissa ämnen, som inkommit till Universitetsdjursjukhuset Uppsala. Urinproverna analyserades avseende de tio biokemiska ämnena dag 0. Proverna delades upp i flera små provrör och förvarades mörkt i rumstemperatur (~20–24 °C), i kyl (4 °C) respektive i frys (-20 °C). Prover som förvarades i rumstemperatur och i kyl analyserades efter 1, 2, 3, 4 och 7 dagar. De prover som förvarades i frys analyserades efter 7 respektive 33–49 dagar.

Resultaten presenterades som procentuell förändring över tid. Om förändringarna var inom ± 10 % bedömdes ämnet vara godtagbart stabilt för att kunna transporteras. Vid bedömning av förändringar utanför ± 10 % har data på biologisk variation ingått i bedömningen om förändringarna anses betydelse vid klinisk tolkning av resultaten.

Sex ämnen (kreatinin, urea, natrium, kalium, klorid, fosfat) uppvisade god hållbarhet i alla undersökta temperaturer vid alla analystillfällen, dvs alla prov-resultat låg inom ± 10 % jämfört med dag 0. De övriga ämnena (glukos, cystatin C, protein och kalcium) hade mer varierande hållbarhet. Urin-glukos förändrades mindre än ± 10 % under de första fyra dagarna om provet förvaras i kyl eller under hela

studietiden i frys, men hade sämre hållbarhet i rumstemperatur. Urin-kalcium var stabilt i fyra dagar vid förvaring i rumstemperatur eller kyl, men koncentrationen sjönk vid förvaring i frys. Urin-protein och urin-cystatin C, som ofta förekommer i låg koncentration i urinen, hade sämre och mer varierande hållbarhet.

Begränsningen i den här studien var att urinprover som innehåller låga koncentrationer av biokemiska ämnen orsakar en större analytisk variabilitet och som kan leda till stora procentuella förändringar vid hållbarhetsstudier. Dessutom är det relativt få prover som inkluderats i studien, vilket leder till att hållbarheten av en del ämnen i urinen blev svår att bedöma. Sju (U-kreatinin, U-urea, U-natrium, U-kalium, U-klorid, U-fosfat och U-kalcium) av de tio utvärderade urinvariablerna var stabila vid förvaring i rumstemperatur i minst fyra dagar, vilket innebär att de vanligtvis klarar transport till laboratorium.

Bilaga 1

Tabell 3. Sammanställning för samtliga koncentrationer av kemiska metaboliter i prover för dag 0 för studien.
 < = under metodens mätområde. Nedre mätområde för U-cystatin C var 0,01 mg/L, U-protein 0,03 g/L, U-Ca 0,5 mmol/L och U-Na 20 mmol/L.

Koncentration av kemiska metaboliter i prover dag 0 för studien										
	U-krea	U-urea	U-cyst C	U-Na	U-K	U-Cl	U- glukos	U- protein	U-P	U-Ca
A	21380	1207,0	0,020	60	228	187	0,64	0,22	68,9	0,89
B	11473	1229,0	<	<	94	101	0,39	0,09	44,9	0,95
C	9997	407,2	<	139	72	198	0,26	<	31,0	<
D	18092	1152,4	<	54	96	118	0,40	0,19	48,4	0,87
E	10197	783,5	<	<	113	110	0,28	0,04	37,4	1,03
F			0,015	31				0,58		
G				63				1,02		
H			0,723	328				2,00		
I							0,21	0,15		
J							0,52	0,12		
K			0,033				0,70	0,24		
L			0,043					0,23		
Enhet	μmol/L	mmol/L	mg/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	g/L	mmol/L	mmol/L